Aus der medizinischen Klinik der Universität Basel.
Direktor: Prof. Dr. *Rudolf Staehelin.*

EIN BEITRAG ZUR KENNTNIS DES CHOLINS UND SEINER BEZIEHUNGEN ZUR BIOLOGISCHEN RADIUMWIRKUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER
UNIVERSITÄT BASEL
VORGELEGT VON

RAPHAEL LEAL DE SA PEREIRA
AUS BAHIA, BRASILIEN

BASEL
FRIEDRICH REINHARDT, UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI
1918

Aus der medizinischen Klinik der Universität Basel.
Direktor: Prof. Dr. *Rudolf Staehelin.*

EIN BEITRAG ZUR KENNTNIS DES CHOLINS UND SEINER BEZIEHUNGEN ZUR BIOLOGISCHEN RADIUMWIRKUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DER
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER
UNIVERSITÄT BASEL
VORGELEGT VON

RAPHAEL LEAL DE SA PEREIRA
AUS BAHIA, BRASILIEN

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

BASEL
FRIEDRICH REINHARDT, UNIVERSITÄTS-BUCHDRUCKEREI
1918

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt auf Antrag von Prof. R. Staehelin.

Meiner Mutter

Clotilde Leal de Sa Pereira

in Dankbarkeit gewidmet.

ALLGEMEINER TEIL

An das Cholin knüpfen sich zwei Hypothesen, die, obschon sie nicht unwidersprochen geblieben sind, doch von einer solchen Bedeutung waren, dass durch sie dieser Körper in den Vordergrund des Interesses medizinischer Kreise gerückt worden ist.

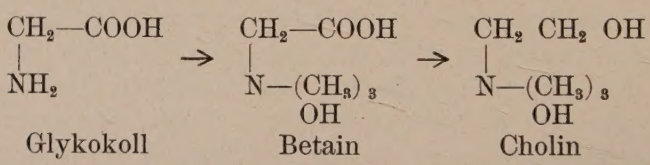
Die eine war die von Mott, Halliburton und Donath aufgestellte Theorie, dass der Nachweis des Cholins im Blute und in der Cerebrospinalflüssigkeit eine sichere Basis für die Diagnose einer *organischen* Erkrankung des Zentralnervensystems bildet; die zweite, kaum weniger wichtige, war die Hypothese von Schwarz, nach der die biologische Radiumwirkung auf eine durch *Lecithinzersetzung* und *Cholinbildung* beruhende Schädigung der Zellen zurückzuführen sei.

Die zahlreichen angestellten Untersuchungen über das Cholin brachten, wenn auch keine einwandfreie Bestätigung dieser Annahmen, so doch eine genauere Kenntnis der chemischen und pharmakologischen Eigenschaften dieses physiologisch äusserst wirksamen Körpers. Wegen der grossen Bedeutung derselben sollen sie hier Erwähnung finden, bevor wir uns speziell den *Beziehungen des Cholins zur Radiumwirkung zuwenden.*

Als erster hat Strecker[85]) Cholin aus Schweine- und Rindergalle rein dargestellt; es konnte weiterhin aber festgestellt werden, dass das Cholin nicht nur als Baustein der Lecithine eine allgemeine Verbreitung im tierischen und pflanzlichen Organismus zeigt, sondern auch in freiem Zustande in den verschiedensten Organen und Körperflüssigkeiten nachzuweisen ist. So fanden Schwarz und Lederer[82]) Cholin in der Thymus, Milz und Lymphdrüsen; von Fürth[27]) in der Schilddrüse; Gautrelet[28]) in Leber, Ovarium, Milz, Schilddrüse, Niere, Hoden, Hypophyse und

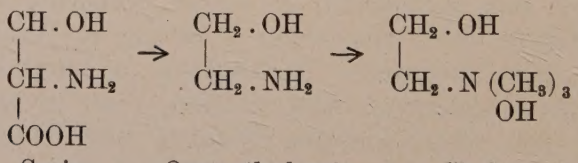
Pankreas; Kinoschita[46]) im Pankreas, Dünndarm, Milz, Leber, Niere und Muskel; Lohmann[49 50]) in den Nebennieren und zwar in der Rinde lokalisiert; Mott und Halliburton [34 35]) im zentralen und peripheren Nervensystem. Reid Hunt[43]), sowie Guggenheim und Löffler[31]) konnten nachweisen, dass Cholin in geringen Mengen in *allen* Körperflüssigkeiten vorhanden ist, indem sie Methoden anwandten, die auch minimale Cholinmengen nachzuweisen gestatten.

Als Quelle des Cholins im tierischen Organismus muss in erster Linie die grosse Menge Lecithin, die mit der Nahrung aufgenommen wird, angesehen werden. Durch den Darm und Pankreassaft wird das Lecithin in die einzelnen Bausteine gespalten, wobei Cholin frei wird[10]). Fingerling[24]) stellte aber fest, dass dies nicht der einzige Ursprung des Cholins sein kann, da Enten, die er lange Zeit mit phosphatidarmer Nahrung gefüttert hatte, Eier mit normalem Lecithingehalt legten, woraus er auf eine synthetische Bildung des Cholins im Organismus schloss. Dieselbe würde auf einer Methylierung von Aminosäuren beruhen[1]), entweder direkt vom Glykokoll aus zu Betain und Reduzierung zu Cholin nach folgender Formel:



Glykokoll — Betain — Cholin

oder nach erfolgter Decarboxylierung, bei der Ueberführung von Serin in Oxyaethylamin und nachfolgenden Methylierung zu Cholin:



Serin — Oxyaethylamin — Cholin

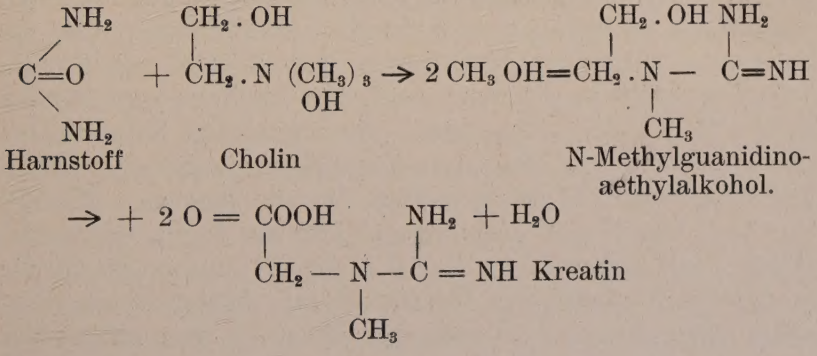
Die Kenntnisse über den Stoffwechsel des Cholins sind aber noch zu unsicher, als dass man sich eine bestimmte Vor-

stellung sowohl von dem Auf- wie dem Abbau desselben machen könnte.

Sicher konnten verschiedene Autoren[26 65]) feststellen, dass parenteral eingeführtes Cholin in der Hauptmenge *nicht* als solches im Harne ausgeschieden wird. Intravenös eingeführt, ruft es anfangs eine Erhöhung des Cholingehaltes des Blutes hervor, wird aber sehr rasch zerstört. Welchem Organ die Fähigkeit zukommt, das Cholin abzubauen, konnte noch nicht festgestellt werden. Guggenheim und Löffler[31]) suchten durch Perfusionsversuche der *überlebenden* Leber die Frage zu lösen, konnten aber bisher nur feststellen, dass dieselbe nicht fähig ist, das Cholin in stärkerem Masse zu verändern.

Als in wichtiger Beziehung zum Cholin stehend wurden die Nebennieren angesehen, da einerseits ihr Cholingehalt sehr gross ist[53]), anderseits festgestellt wurde, dass nach Exstirpation derselben eine Erhöhung des Cholingehaltes im Blut eintritt[28]). Nach Donath[17]) und Gradinesko[29]) scheint es sich dabei nicht um eine Vermehrung des Cholingehaltes, sondern nur um eine Erhöhung der Konzentration im Blute zu handeln, denn sie fanden auch eine relative Vermehrung der korpuskulären Elemente des Blutes.

Nach Hoesslin[41]) findet der Abbau durch *Entmethylierung* statt, denn er konnte keine methylierte Derivate im Harne nachweisen. Der Abbau würde zu Ameisensäure und Glyoxylsäure führen. Die Formiate fand er in der Tat ebenso wie Franchini[26]) nach Cholindarreichung vermehrt. Nach Riesser[69 70]) führt der Abbau zum Kreatin und dadurch



zu Vermehrung des Kreatiningehaltes des Harns. Das Cholin bindet sich an Harnstoff und bildet durch Oxydation Kreatin.

Die angeführten Autoren hatten im Harne kein Cholin nachweisen können, dieses beruht darauf, dass sie sich der chemischen Nachweismethoden bedienten, die in Anbetracht der Ungenauigkeit derselben und der geringen Menge der nachzuweisenden Substanz keine sicheren Resultate ergaben. Ein grosser Fortschritt war die Einführung der viel empfindlicheren biologischen Methoden; mit diesen konnten Reid Hunt (loc. cit.) und Guggenheim und Löffler nachweisen, dass normalerweise, wenn auch nur in geringen Mengen, Cholin im Harne vorhanden ist.

Die erwähnten *chemischen* Nachweismethoden beruhen auf der Bildung von charakteristischen Doppelverbindungen des Cholins mit Salzen der Schwermetalle. Aus dem zu untersuchenden Material wird das Cholin durch Phosphorwolframsäure, Tannin oder Jodjodkalium[84]) gefällt und dann in die Platin-, Gold-[46]), Kadmium-[78]) oder Quecksilberverbindung[80]) übergeführt. Besonders angewandt wird die Platinverbindung. Die so erhaltenen Kristalle werden, um sie von den sehr ähnlichen Doppelsalzen der Alkalien zu trennen, wiederholt in absolutem Alkohol gelöst und erneut auskristallisiert. Es besteht ein charakteristischer Dimorphismus dieser Platindoppelsalzkristalle, denn werden sie in *Wasser* gelöst und *daraus* auskristallisiert, so zeigen sie Doppelbrechung im polarisierten Lichte[18 40]). Zur Identifizierung der Platindoppelsalze dient ausserdem eine von Rosenheim angegebene Reaktion[73]), die auf Bildung von «Florence»schen Kristallen beruht. Lässt man die Lösung unter Zusatz von Jodjodkalium verdunsten, so bilden sich Kristalle von Cholinperjodid, die unter dem Mikroskop wegen ihrer Aehnlichkeit mit *Häminkristallen* leicht zu erkennen sind. Die Cholinmengen können durch Wägen der sicher als solche erkannten Kristalle bestimmt werden. Bedeutend empfindlicher als die chemischen Methoden sind, wie schon gesagt, die biologischen. Halliburton und Mott[36]) benutzten dafür die durch Cholin bedingte *Blutdrucksenkung*, Reid Hunt[38]) ausser dieser die graphische *Registrierung der Herzaktion*, da das Cholin Veränderungen chrono- wie inotroper Natur an dem Ablauf der

Herzsystolen bewirkt. Guggenheim und Löffler arbeiteten eine genaue Methodik aus, die auf der *tonussteigernden* Wirkung des Cholins auf den überlebenden *Meerschweinchendarm* beruht. Diese Methodik soll weiterhin noch nähere Berücksichtigung finden.

Diese Wirkungen des Cholins führen uns zu Betrachtungen seiner pharmakologischen Eigenschaften. Es stellt ein ausgesprochen erregendes Gift des autonomen Nervensystems dar und hat darin viel Aehnlichkeit mit dem ihm chemisch nah verwandten, jedoch viel wirksameren Muscarin. Miosis, Accomodationskrampf, Herabsetzung des intraocularen Druckes, Steigerung von Speichel-, Magensaft-, Pankreas- und Harnsekretion[14 82]), Verstärkung der Magendarmperistaltik, sowie des Tonus der glatten Muskulatur von Darm und Uterus konnten als Cholinwirkung festgestellt werden. Verschieden beurteilt wurde sein Einfluss auf den Kreislauf, sowohl pressorische wie depressorische Wirkung auf den Blutdruck wurden angegeben, bei vielen Untersuchungen zeigte sich eine Erniedrigung mit darauffolgender Erhöhung desselben. Einige Autoren sahen die Erhöhung als die eigentliche Cholinwirkung an und führten die Erniedrigung auf Verunreinigung des Präparates[52 63]) zurück. Von anderer Seite wurde aber festgestellt, dass da, wo die zentralerregende Wirkung des Cholins durch eine tiefe Narkose ausgeschaltet ist, nur eine depressorische Wirkung stattfindet[49]). Noch nicht aufgeklärt ist, falls letzteres zutrifft, warum, wenn die depressorische Wirkung durch eine vorausgehende *Atropininjektion* unmöglich gemacht ist, nur starke Erhöhung des Blutdruckes eintritt. Die Blutdruckwirkung wird nicht allein peripher, sondern auch durch direkte Einwirkung auf das Herz bedingt; durch den abnorm verstärkten Vagustonus tritt eine Verkleinerung und Ausfallen der Systolen ein, die an sich schon ein Sinken des Blutdruckes hervorrufen. Die Blutdruckerniedrigung kann durch Adrenalin behoben werden[88]); auf diese Wechselwirkung führte Lohmann[49]) den normalen Blutdruck zurück, nach Abderhalden und Müller[2]) sind die Cholinmengen im Blut zu klein, als dass sie diese Wirkung ausüben könnten. Auch auf das Zentralnervensystem übt Cholin eine erregende Wirkung aus, und zwar in dem Masse,

dass dadurch bei curarisierten Tieren der Curareblock überwunden werden kann und Bewegungen auftreten. In grösseren Mengen bewirkt es starke Krämpfe. Darauf glaubt Donath seine Ansicht basieren zu können, dass dem Cholin ein Einfluss auf die *Epilepsie* zuzuschreiben sei, denn er konnte bei intracerebraler Applikation epileptoide Krämpfe auslösen. Ausser ihm fanden Mott, Halliburton, Rosenheim u. a. Cholin im Blute und in der Cerebrospinalflüssigkeit bei den verschiedensten Krankheiten des zentralen und peripheren Nervensystems wie: *progressive Paralyse, Hirnsyphilis, multiple Sklerose, Epilepsie, diphterische Paralyse und multiple Neuritis*[34 16 5]). Sie führten dieses Cholin auf einen vermehrten Abbau von nervöser Substanz zurück. Auch diese Theorie ist von verschiedenster Seite angegriffen worden[12]), aber auch hier zeigte sich bis vor kurzem ein Mangel einer genügend empfindlichen Nachweismethodik. Mit der ihrigen konnten Guggenheim und Löffler feststellen, dass schon normalerweise Cholin im Blut und in der Cerebrospinalflüssigkeit vorhanden ist; eine Erhöhung fanden sie wohl in einzelnen Fällen von Lues cerebrospinalis und Tabes dorsalis, ohne aus ihren wenigen Fällen dieselben Schlüsse ziehen zu wollen, wie die oben zitierten Autoren.

Wir kommen jetzt auf die zweite Hypothese zurück, die sich auf die Beziehungen des Cholins zur Radiumwirkung bezieht. Sie wurde im Jahre 1903 von Schwarz aufgestellt[81]), der angab, dass die Radiumwirkung auf den Organismus auf einer Zersetzung des Lecithins der Zellen beruhe, wobei es durch die gebildeten Spaltungsprodukte (speziell Cholin) oder durch Entziehung des lebenswichtigen Lecithins zu einer Nekrobiose der Zellen käme. Er stützte seine Theorie auf die Befunde, die er bei Bestrahlungen von Hühnereiern erhoben hatte. Die Eier zeigten nach einer 144 Stunden lang dauernden Bestrahlung eine leichte circumscripte Bräunung der Schale, sowie eine ebenfalls circumscripte grünliche Verfärbung am Dotter, der an dieser Stelle starr war, tranig schmeckte und nach schlechtem Lebertran *(Trimethylamin)* roch. Um die Möglichkeit einer lokalen Wärmeeinwirkung des Radiums bei der Applikation auszuschalten, machte er Kontrollversuche, bei denen eine solche mittels einer be-

sonderen Apparatur zur Anwendung kam, ohne jedoch gleiche Resultate zu erhalten. Anderseits zeigte sich der Vorgang unabhängig von dem Luftsauerstoff, denn er liess sich in den wesentlichen Teilen auch in eine Wasserstoffatmosphäre erzielen. Gegen die Möglichkeit einer Fäulnis führte er die strenge Lokalisation und die von ihm angenommene antiseptische Wirkung der Strahlen an. Zu den Bestrahlungen wurde eine Dosis von 2 cgr Radiumbromid verwendet, die sich in einer Messingkapsel befand, welche ein nur durch eine Glimmerplatte verschlossenes Fenster besass.

Aus diesen Tatsachen zog er den Schluss, dass die Radiumstrahlen eine Zersetzung des Lecithins bewirken, die über das Cholin zur Bildung von Trimethylamin führe. Durch die Zersetzungsprodukte oder den Schwund des Lecithins würden sich die regressiven Veränderungen erklären. Daraus, dass die Radiumwirkung besonders intensiv an normal oder pathologisch im Wachstum begriffenen Zellen zustande kommt, die anderseits als sehr reich an Lecithin bekannt sind, nahm er an, dass es sich um eine *elektive Wirkung auf das Lecithin* handle. Er stellte auch Versuche an isoliertem Lecithin an und fand ebenfalls eine solche Einwirkung, gab aber selbst zu, dass schon vor der Bestrahlung das Lecithin nicht ganz unzersetzt war. Werner suchte die Theorie noch dadurch zu stützen, dass er mit bestrahltem Lecithin intracutane Einspritzungen anstellte, die solche Hautveränderungen bewirkten, wie sie als typisch für die Radiumwirkung bekannt waren[42]). Er nannte dieses *Imitation der Radiumwirkung.* Nachdem Exner[20]) festgestellt hatte, dass auch Röntgenstrahlen das Lecithin zur Imitation befähigen könnten, wurden die daraus gezogenen Schlüsse auf die Strahlenwirkung im allgemeinen ausgedehnt. Es stellte sich heraus, dass das Lecithin, um die Strahlenwirkung zu erzeugen, nicht notwendigerweise vorher bestrahlt zu werden brauche. Verschiedene andere Einwirkungen wie Oxydation, Spaltung durch Abrin oder Salzsäure, Pepsin[21 95 96]) befähigten dieses, die Strahlenwirkung zu imitieren. Von den Spaltungsprodukten fanden Exner[22]) und Werner[96]), dass das Cholin am stärksten die chemische Imitation zu bewirken imstande sei. Schlachta[76]) konnte ebenfalls durch Oxydation von Lecithin mittels Ozonisierung,

Wasserstoffsuperoxyd, Eosin bei nachfolgender Belichtung die chemische Imitation erzielen. Er sah aber die Cholinwirkung als eine reine Basenwirkung an, denn einerseits konnte er mit den Cholinsalzen nicht dieselben Resultate erzielen, wohl aber durch intracutane Applikation von schwachen Alkalilösungen[77]). Aeusserst verdünnte Lösungen von Kalilauge oder Ammoniak bewirkten an der Applikationsstelle Verdickungen bis Nekrotisierung der Haut mit einer Randzone, wo der für die Strahlenwirkung als sehr typisch angesehene Haarausfall eintrat. Inzwischen hatte Wohlgemuth die Angaben von Schwarz bekämpft, indem er die Möglichkeit eines durch die Radiumstrahlen bewirkten Lecithinabbaues bestritt. Neuberg stellte gemeinsam mit ihm der Schwarzschen eine Theorie der *fermentativen* oder *autolytischen* Radiumwirkung entgegen. Nach dieser bewirken die Radiumstrahlen eine Schädigung der für die Lebensfunktionen wichtigen Fermente und ein Ueberhandnehmen der autolytischen, wodurch es zum Zerfall der Zellen käme. Bei Versuchen an tuberkulöser Lunge[109 110]) und carcinomatöser Leber[59-61]) konnten sie eine durch die Bestrahlung bedingte Vermehrung der Zerfallsprodukte nachweisen, die sich aber qualitativ nicht von denen unterschieden, die bei normaler Autolyse gebildet werden. Werner suchte in einer neuen Theorie beide Standpunkte zu vereinigen. Er gab zu, dass die bei den Bestrahlungen angewandten Strahlenmengen in keinem Verhältnis zu den in vitro auf Lecithin einwirkenden ständen, er suchte das so zu erklären, dass kein Abbau des Lecithins, sondern nur eine *Labilisierung* desselben eintrete, wodurch das Lecithin für die Fermente angreifbarer würde. Die Radiumwirkung würde darnach einen komplexen Vorgang darstellen, bei dem die einzelnen Komponenten sich gegenseitig verstärken[98]). Primär würde eine Ozonbildung stattfinden, das gebildete Ozon zusammen mit den Strahlen selbst das Lecithin labilisieren, dadurch würde dieses für die Fermente angreifbar und unter Bildung von Cholin zersetzt. Das gebildete Cholin sollte seinerseits oxydativ auf das Lecithin wirken und durch diesen Circulus vitiosus den Zerfall beschleunigen. Dabei könnte der Zelltod einerseits durch den Verbrauch des Lecithins, andererseits durch eine toxische Cholinwirkung erklärt

werden. Die gegenseitige Verstärkung des Vorganges würde die für die Strahlenwirkung charakteristische Latenzperiode erklären. Die von Schlachta erhobenen Befunde über Imitation durch Alkali erklärte er durch eine oxydative Wirkung schwacher Alkalien, denn auch er hatte durch andere oxydierende Agentien wie ozonisiertes Terpentinöl dieselben Veränderungen hervorgerufen[96]). Die Frage, ob die Nekrobiose der Zellen mehr durch einen Verbrauch an Nährmaterial oder durch toxische Wirkung zu erklären sei, glaubte er im letzteren Sinn beantworten zu müssen. Als Beleg dafür konnte der Umstand aufgeführt werden, dass die Veränderungen nicht auf der bestrahlten Stelle lokalisiert bleiben, sondern auch die Umgebung in einem gewissen Umkreis schädigen, was auf Diffusion des toxischen Produktes zurückgeführt werden könnte[96]). Diese toxische Wirkung schrieb er dem Cholin zu um so mehr, als es auch möglich gewesen war, mit Cholin ausser der Hautwirkung auch Strahlenwirkung auf innere Organe zu imitieren. So die Veränderungen des hämatopoetischen Apparates und des Blutes[87 107]), der Geschlechtszellen[21 22 4]) und sogar des Embryos im Uterus im Sinne des von Hippel und Pagenstecher angegebenen Zentralstars[40]). Es gelang ihm auch, Kaninchen durch wiederholte subcutane Injektionen zu sterilisieren, und er stellte darauf eine Reihe von Versuchen über die Wirkung auf Tumoren an[100 107]). Bei Mäusecarcinomen und Rattensarcomen wurden intra- und paratumorale Cholininjektionen gemacht. Nach den intratumoralen stellte sich bei einigen Erweichung und Resorption ein, andere ulzerierten. Bei paratumoralen konnte auch ein Rückgang bewirkt werden, jedoch mussten so hohe Dosen angewendet werden, dass die Tiere daran starben. Bei der darauffolgenden Applikation an menschlichen Tumoren musste mit Vorsicht vorgegangen werden, denn es zeigte sich, dass leicht Intoxikationserscheinungen auftraten, die in Schwindel und Schwächegefühl, Speichelfluss, Herzklopfen, Uebelkeit, Erbrechen, profusen Diarrhöen, heftigen Schmerzen im Abdomen und Schweissausbruch bestanden[6]). Werner gibt an, dass nicht über die Dosis von 2 gr. einer 50prozentigen Lösung gegangen werden dürfe, da zumal die Zersetzung des Cholins unter Bildung von *Neurin* zu fürchten

sei. Auch an den menschlichen Tumoren zeigte sich ein verschiedenes Verhalten; bei einigen trat Schrumpfung und Induration ein, während andere erweichten oder in grösseren Teilen der Nekrose verfielen, wobei sich der nekrotische Teil schwer abstiess. Wie bei Bestrahlungen konnte auch hier festgestellt werden, dass nicht das ganze Tumorgewebe gleichmässig reagiert, sondern einzelne Teile erhalten bleiben und sich äusserst resistent zeigen, während andere zerfallen. Ausserdem zeigten einzelne Fälle, wo die Reaktion eine sehr intensive war, durch intensive Resorption der Zerfallsprodukte einen sepsisähnlichen Verlauf, der rasch zum Tode führte. Wurde anstatt der intratumoralen eine paratumorale Applikation gemacht, wobei 200—350 ccm. einer ½—1%igen Lösung angewendet wurden, so zeigten die Geschwülste mehr Neigung zu Induration, jedoch in viel geringerem Grade als bei der intratumoralen. Anderseits war die Intoxikationsgefahr eine grössere und bei insuffuzienter Behandlung sollen die Geschwülste wie bei ungenügender Bestrahlung im Gegenteil raschere Fortschritte gezeigt haben. Werner führte die Misserfolge auf die Unzuverlässigkeit des *Cholinum basicum* zurück und versuchte, dieses durch andere Cholinderivate zu ersetzen. Das *Cholinum hydrochloricum* zeigte sich sehr wenig wirksam, was sehr mit der S c h l a c h t a'schen Ansicht in Einklang stand, dass die Cholinwirkung eine Basenwirkung darstelle. Auch er konnte durch Ammoniakinjektionen bei Geschwülsten weitgehende Zerstörung erzeugen, aber dabei wurde das umgebende Gewebe ebenfalls schwer geschädigt. Es wurden sodann andere Cholinsalze untersucht wie: das *borsaure*, *atoxylsaure*, *jodatoxylsaure*, *zinksaure*, *nukleinsaure*, *salicylsaure* und *arseniksaure* Cholin, ausserdem Verbindungen des Cholins mit Glykokoll und Jodkresol. Wegen ihrer grossen Giftigkeit mussten einzelne von diesen von vornherein ausgeschaltet werden. Brauchbar zeigten sich das *borsaure*, *jodbenzoesaure*, *atoxylsaure* und *ameisensaure* Cholin[100]). In der Folge wurde das *borsaure Cholin (Encytol)* angewandt, mit dem es gelang, nicht nur Dermatitis mit Latenzstadium zu erzeugen, sondern auch Atrophie der Hoden und Veränderung des Blutbildes analog der Röntgen- und Thoriumwirkung hervorzurufen. Die Applikationen bei Geschwülsten

bewirkten zentrale Einschmelzung und Schrumpfung. Enzytol wurden intravenös 3—5 ccm einer 10%igen Lösung auf 20 ccm physiologische Kochsalzlösung verdünnt injiziert, in einer Reihe von 20—30 Injektionen, die täglich gemacht wurden. Enzytol wurde ausser bei Tumoren auch bei Hautaffektionen, die auf Strahlen reagieren, angewendet[72]). So wurde bei Psoriasis eine alleinige Cholintherapie versucht, welche aber zu keinem Resultat führte. Da auch sonst die Enzytoltherapie keine sicheren Resultate ergab, wurde sie mit Röntgenstrahlen kombiniert; dabei zeigte sich, dass eine Verstärkung der Röntgenwirkung eintrat[71]), indem schon schwache Röntgendosen in ihrer Wirksamkeit sehr stark erhöht wurden. Deswegen musste mit der Röntgendosierung sehr vorsichtig verfahren werden, um schwere Verbrennungen zu vermeiden. Ueber die therapeutische Anwendbarkeit des Cholins lässt sich zusammenfassend folgendes sagen: Während bei der Strahlentherapie wie auch bei jeder Chemotherapie der Geschwülste unser Ziel sein muss, die Wirkung im höchsten Masse auf das Geschwulstgewebe zu konzentrieren und dem übrigen Organismus womöglich nicht zu schaden, zeigt die Cholintherapie gerade die entgegengesetzte Wirkung, sie *generalisiert* die Strahlenwirkung. Abgesehen von den Intoxikationserscheinungen, die momentan bei der Applikation auftreten können, treten Schädigungen des haematopoetischen Apparates, Atrophie der Geschlechtsdrüsen und Schädigung der gesamten Haut auf, die zumal bei nachfolgender Bestrahlung zu schweren Veränderungen führen können. Die Cholintherapie mit der Strahlentherapie kombiniert, bewirkt auf die Geschwülste nur eine Verstärkung der Dosis, schädigt dabei die Haut, wie wenn man direkt die entsprechende Röntgendosis einwirken liesse, und hat ausserdem noch die schädliche Allgemeinwirkung.

Während wir uns jetzt mit der praktischen Anwendbarkeit des Cholins beschäftigt haben, müssen wir auch noch auf die andere Frage eingehen, nämlich ob die *theoretischen Voraussetzungen* für dieselbe geliefert sind. Die ganze Theorie der Lecithinwirkung ist von verschiedenster Seite bekämpft worden, sehr beweiskräftig waren die Resultate, die O. und G. Hertwig[38 39]) bei Bestrahlungen von Spermien, un-

befruchteten sowie befruchteten Eiern erhielten. Schon vor ihnen war festgestellt worden[8 9 75 92]), dass durch Bestrahlung von in Furchung begriffenen Eiern die Erzielung von Missbildungen möglich sei. Sie stellten dann eine Reihe von Versuchen an, wo teils normale, unbefruchtete Eier mit bestrahlten Spermien befruchtet wurden, teils die Bestrahlung an den Eiern stattfand, während die Spermien normal waren. Dabei konnten sie auf beide Arten gleiche Resultate erzielen, obschon der grosse Lezithingehalt der Eier in gar keinem Verhältnis zu den äusserst geringen Mengen, die in den Spermien vorhanden sind, steht. Hertwig führt die Radiumwirkung auf direkte Beeinflussung des Chromatins zurück, die in dem Embryo zum Vorschein kommt, ohne jedoch die Befruchtung unmöglich zu machen. Nach Bohn[9]) lässt sich durch Bestrahlung parthenogenetische Entwicklung von Eiern bewirken. Auch auf chemischer Basis wurde der Abbau bestritten, erst aber durch Verfeinerung der Nachweismethoden ist es möglich geworden, eine sichere Entscheidung zu treffen. Mit der von Guggenheim und Löffler angegebenen Methodik hat Gähwyler[29]) in einer Reihe von Versuchen die Frage zu lösen gesucht. Er hat die Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Lecithinemulsion, Hühnereier, sowie lecithinreiche Organe wie Ovarium und Testikel, geprüft, ohne eine lokale Cholinvermehrung nachweisen zu können. Auch im Harn und Blut von bestrahlten Patienten und Tieren konnte er keine solchen finden.

Bevor wir uns an die Besprechung unserer eigenen Versuche wenden, müssen wir uns mit den Resultaten von Schwarz beschäftigen; denn wenn durch die Schwierigkeiten des Nachweises eine Unstimmigkeit über die Cholinbildung erklärlich ist, so sind die makroskopischen Veränderungen am Ei, über die Schwarz berichtet, doch so augenfällige, dass hier die Unstimmigkeit schwerlich zu erklären wäre. Ausserdem wurden seine Versuche von Messernitzky[57]) bestätigt, der sie sogar an gekochten Hühnereiern ausführte, wo fermentative und Fäulnisprozesse ausgeschlossen waren. Dabei muss man beachten, dass seine Versuchsanordnung nicht gleiche Verhältnisse schafft wie die üblichen therapeutischen Bestrahlungen. Nicht nur wen-

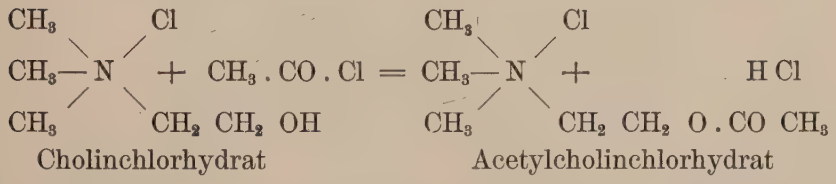
dete er keine Filter an, sondern hatte ein nur durch Glimmer verschlossenes Fenster an seiner Kapsel, durch das ein gewisser Prozentsatz α-Strahlen und alle weichen β-Strahlen passieren konnten. Messernitzky fand nämlich gar keine Einwirkung, sobald er die α-Strahlen ausschaltete. Selbst aber wenn man diese Veränderung als durch die α-Strahlen bedingt ansieht, könnte man dennoch nicht die biologische Strahlenwirkung damit erklären, da die Zerstörung der Zellen auch dort stattfindet, wo ähnliche Verhältnisse nicht vorliegen. Im Gegenteil sucht man in der Therapie durch Filtrierung diese Strahlen möglichst auszuschalten. Unsere Experimente waren darauf gerichtet, nachzuweisen, in wie weit unter den gegenwärtig in der Therapie massgebenden Bedingungen die Radiumwirkung auf eine Cholinbildung zurückgeführt werden kann.

SPEZIELLER TEIL

Wir haben versucht, die Anordnung unserer Untersuchungen möglichst identisch mit den Applikationsmethoden des Radiums am Lebenden zu gestalten, um somit identische Strahlenmengen und Qualitäten in Anwendung zu bringen. Zur Bestrahlung diente uns eine Kapsel mit 25 mg. Radiumbromid.*) Das Radium ist in einem dünnwandigen verschlossenen Glaszylinder, der seinerseits in einer 2 mm dicken Silberkapsel eingeschlossen ist, diese wurde noch mit einer dünnen Paraffinschicht überzogen. Bei dieser Anordnung kommen keine α-Strahlen zur Anwendung und auch ein grosser Prozentsatz der weichen β-Strahlen wird absorbiert. Die Bestrahlungen dauerten 144 bis 150 Stunden, da wir sicher sein wollten, die von Schwarz applizierten Strahlenmengen zu erreichen. Dieselben sind um so mehr erreicht worden, als wir mit 25 mg. arbeiteten, während er nur 20 mg. anwandte. Als Bestrahlungsobjekt wandten wir freie Lecithinemulsionen und Hühnereier an, bei den erstern wurde die Radiumkapsel direkt in die Emulsion gebracht, bei den Eiern mittels Paraffin auf die Schale fixiert. Die Versuche wurden sämtlich bei Sauerstoffzutritt und ohne sonstige Vorsichtsmassregel ausgeführt, ausser dass immer gleichzeitig und unter gleichen Verhältnissen ein Kontrollversuch ohne Bestrahlung angestellt wurde. Zum Nachweis des Cholins bedienten wir uns der Methodik von Guggenheim und Löffler am überlebenden Meerschweinchendarm. Hinsichtlich der Apparatur verweisen wir auf die Original-

*) Die Radiumkapsel ist uns freundlicherweise von Prof. Labhardt, Direktor der Frauenklinik überlassen worden, wofür wir hier unsern Dank aussprechen möchten.

arbeit[31]). Hier sollen nur Einzelheiten der Technik, die wir befolgt haben, besprochen werden. Die Methode beruht auf der tonussteigernden Wirkung des Cholins auf den überlebenden Meerschweinchendarm, dessen graphische Registrierung das Cholin noch in einer Konzentration von 1 : 100,000 nachzuweisen gestattet. Reid Hunt und Guggenheim und Löffler stellten fest, dass die biologische Wirksamkeit des Cholins sehr stark vermehrt werden kann durch Ueberführung desselben in das *Acetylderivat.* Ein Uebergang, der durch folgende Gleichung angegeben wird:



Cholinchlorhydrat — Acetylcholinchlorhydrat

So ist dieses am Meerschweinchendarm 10 000 mal aktiver als das Cholin und lässt sich somit in eine Konzentration von 1 : 1,000,000,000 erkennen.

Wirkung von 1/10,000 mg. Acetylcholin auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Wirkung von 4/10,000 mg. Acetylcholin auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm.

Die Ueberführung des cholinhaltigen und von Lecithin befreiten Materials in das Acetylcholin lässt sich derart an-

stellen, dass man die Lösung eindampft, den Rückstand mit kleinen Mengen absoluten Alkohols aufnimmt und in ein starkwandiges Reagensglas bringt; hier wird nochmals durch Erhitzen auf dem Wasserbad der Alkohol entfernt. Zu dem

Wirkung von 1/1,000 mg. Acetylcholin auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm.

noch im Vacuum weiter getrockneten Rückstand wird mittels eines Capillartrichters 1 cm³ Acetylchlorid zugefügt, das Reagensglas zugeschmolzen und während einer Stunde in einem geschlossenen Wasserbad auf 100° erhitzt. Nach dem völligen Erkalten wird das Röhrchen geöffnet, der Ueberschuss des Acetylchlorids abgedampft, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und vorsichtig mit Bicarbonatlösung neutralisiert. Die Neutralisation darf nicht mit stärkeren Alkalien stattfinden, da es ein Charakteristikum des Acetylcholins ist, durch dieselben zerstört zu werden[32]). Darauf wird die Verdünnung auf ein bestimmtes Quantum vorgenommen, entsprechend dem Cholingehalt des Materials, jedoch immer so, dass die am Darm zu prüfende Lösung in 0,1—1,0 cm³ nahezu die minimale wirksame Menge von Acetylcholin enthält. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Darmstücke in ca. 100 cm³ Ringerlösung stehen und also diese weitere Verdünnung mit zu berechnen ist.

Die ersten Versuche haben wir so angestellt, dass wir den am Mesenterialansatz abgetrennten Darm des soeben getöteten Tieres, den man so wenig wie möglich mit den Händen in Berührung bringt, in Ringerlösung von 36—38° brachten

und von dort die einzelnen etwa 2 cm langen Stücke abtrennten. Die Ringerlösung wird zweckmässig während der Untersuchung gewechselt und bei guter Temperatur erhalten. Bei den letzten Versuchen wandten wir die von Trendelenburg[90]) letzthin angegebene Methode an, die Darmstücke dem lebenden Tier zu entnehmen, das man dazu in eine tiefe Urethan-Narkose versetzt. Wir wandten zur Narkose eine subcutane Einspritzung von 5 cm³ einer 20gradigen Urethanlösung an.

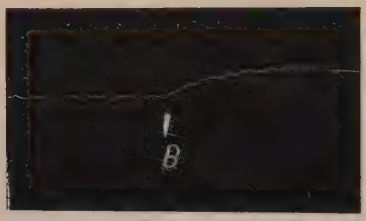
Der quantitative Nachweis des Cholins kann auf zweierlei Arten geliefert werden: einerseits durch Feststellung der minimal wirksamen Menge der Lösung, anderseits durch Vergleich mit einer Lösung von bekannter Konzentration. Wenn man, wie in unserem Falle, Versuche anstellt, an die man gleichzeitig Kontrollversuche anschliesst, ist der Vergleich der beiden Lösungen das gegebene. Für die Vergleichsversuche stellt man die Superpositionsmethode an, indem an demselben Darmstück gleiche Mengen der beiden Lösungen nacheinander appliziert werden. Bei gleicher oder schwächerer Konzentration der zweiten ist die Einwirkung immer eine wesentlich geringere als die erste, da durch den ersten Reiz die Irritabilität des Darmstückes verringert wird. Durch Umkehrung der Reihenfolge lässt sich der Unterschied der Konzentration kontrollieren. Ausser in diesen Fällen haben wir immer nur *einen* Versuch an jedem Darmstück angestellt.

Die gleichzeitigen Kontrollversuche mussten schon darum angestellt werden, weil sowohl bei den Eiern wie bei den Lecithinemulsionen eine minimale Menge Cholin vorhanden war. Die Versuche sollten also den Nachweis erbringen, ob eine Cholinvermehrung stattfindet. Das käufliche Lecithin zeigt einen Cholingehalt von 1%, kann aber durch wiederholtes Auswaschen nahezu cholinfrei gemacht werden. Ein solches, zwanzigmal gewaschenes Lecithin ist uns für die Versuche von Dr. Löffler zur Verfügung gestellt worden.

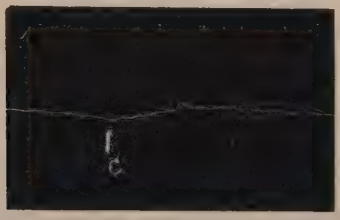
Erster Versuch:

0,4 gr gewaschenes *Lecithin* wurden in 10 cm³ Aether gelöst und unter Umschütteln zu 20 cm³ siedendem Wasser zugegeben, wodurch sich eine haltbare Emulsion bildete. Je

10 cm³ wurden in ein Reagensglas gegeben, ¾ Stunden lang im Dampftopf sterilisiert und darauf das eine mit der Radiumkapsel beschickt, während das andere als Kontrolle zurückblieb. Nach 150stündiger Bestrahlung zeigte sich weder an der Farbe noch an dem Geruch irgend welche Veränderung gegenüber der Kontrolle. Von da ab wurde bestrahltes Lecithin sowie Kontrolle gleich behandelt. Die Emulsionen wurden im Scheidetrichter mit gleicher Menge leicht angesäuerten Aethers unter Kochsalzzusatz ausgeschüttelt. Das gelb gefärbte Lecithin geht in den Aether über, der noch mit essigsaurem Wasser ausgeschüttelt wird, um vom Aether mitgerissene Reste des Cholins zu erhalten. Die vereinigten wässerigen Extrakte werden zur Trockne eingedampft, acetyliert und auf 100 cm³ verdünnt.

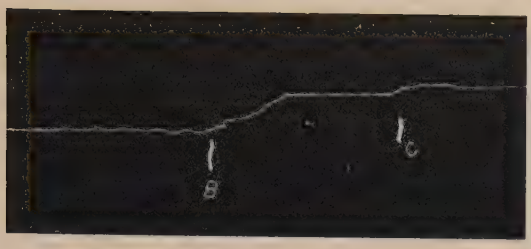


Wirkung von 0,5 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des ersten Lecithinversuchs auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*

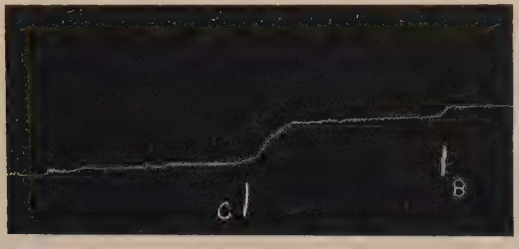


Wirkung von 0,5 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des ersten Lecithinversuchs auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

Der acetylierte Rückstand des Bestrahlten und der Kontrolle wurden am Darm geprüft. Dabei zeigte sich, dass gleiche Mengen nahezu gleiche Ausschläge ergaben.



Superposition von 0,8 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des ersten Lecithinversuches an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt. — Kontrolle.*

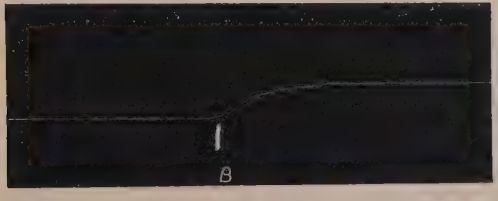


Superposition von 0,8 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des ersten Lecithinversuches an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle. — Bestrahlt.*

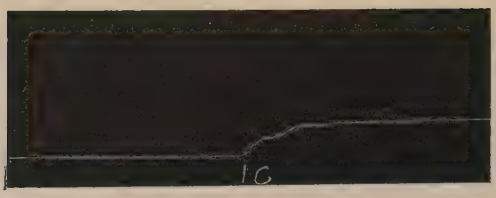
Die Superposition ergibt ebenfalls keine Vermehrung des Cholingehaltes durch die Bestrahlung (siehe Kurven).

Zweiter Versuch:

Bei diesem Versuch wurde gleich verfahren wie bei dem ersten, nur diesmal die Emulsionen nicht sterilisiert.



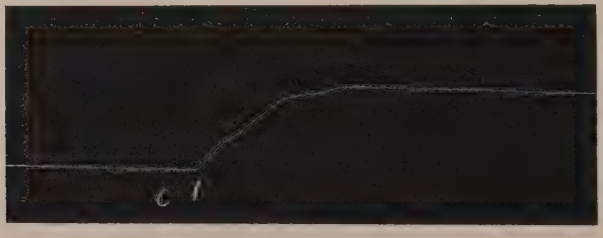
Einwirkung von 0,5 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*



Einwirkung von 0,5 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

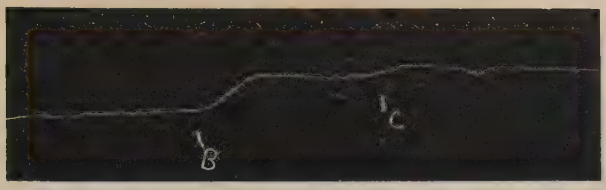
Auch hier zeigte die Prüfung am Darme keine Cholinvermehrung gegenüber der Kontrolle, so dass ausgeschlossen werden kann, dass auch noch so geringe Mengen des Lecithins gespalten worden sind.

Einwirkung von 1 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*



Einwirkung von 1 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

Nach den Versuchen von Gähwyler konnte durch Säurespaltung gezeigt werden, dass bei totalem Abbau dieser 0,2 gr Lecithin schon 0,00025 cm³ einen Ausschlag bewirken müssten, während wir hier erst mit 0,1 cm³ einen solchen finden.

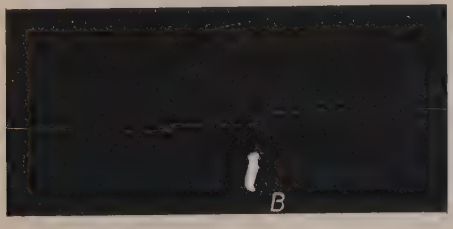


Superposition von 0,8 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.* — *Kontrolle.*

Superposition von 0,8 cm³ des auf 100 cm³ verdünnten, acetylierten Rückstandes des zweiten Lecithinversuches an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.* — *Bestrahlt.*

Dritter Versuch:

Zu diesem Versuch wurden zwei frisch gelegte *Hühnereier* verwendet, von denen das eine während 150 Stunden der Radiumwirkung ausgesetzt wurde, während das andere als Kontrolle diente.



Wirkung von 0,2 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Lösung des dritten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*

Wirkung von 0,2 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Lösung des dritten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

Nach beendeter Bestrahlung konnten wir folgendes feststellen: An der Applikationsstelle des Radiums war auf der Schale keinerlei Bräunung zu finden. Das Weissei zeigte gegenüber der Kontrolle keine Veränderung, abgesehen von einer stärkeren Ausbildung der Chalazen. Der Dotter wies keine Verfärbung oder Konsistenzveränderung auf, vor allem gar keinen Trimethylamingeruch. Als einzige Veränderung fand sich eine geringere Transparenz der Keimbläschen, sowie einige glasig durchscheinende Stellen, die das Aussehen von tropfiger Entmischung kolloidaler Lösungen zeigten, was in Zusammenhang mit den Feststellungen von Henri, Meyer sowie Pauli[37 23]) über Strahlenwirkung auf Kolloide stehen könnte.

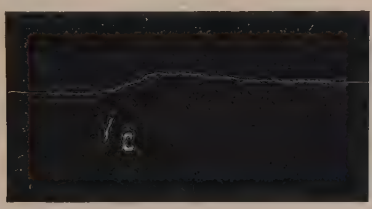
Das Gewicht des bestrahlten Eies betrug 31,73 gr, das der Kontrolle 30,61 gr. Sowohl Weissei wie Dotter wurden mit dem zehnfachen Volumen 96prozentigen Alkohol gefällt,

Superposition von 0,6 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Lösung vom dritten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt. — Kontrolle.*

Superposition von 0,6 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Lösung vom dritten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.* — *Bestrahlt.*

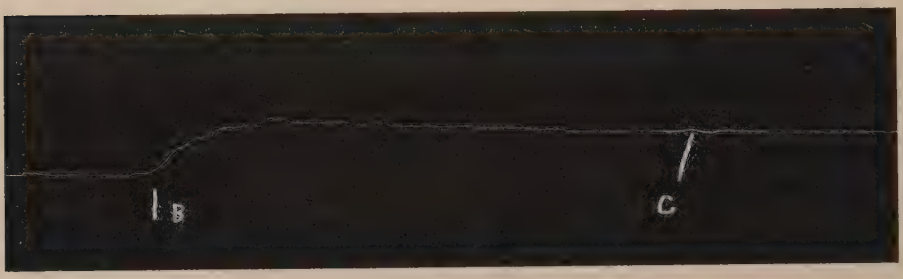
4 Stunden lang stehen gelassen und darnach filtriert. Sowohl aus der alkoholischen Lösung wie der Fällung wurden ein wässriger und ein ätherischer Extrakt bereitet. Die Aetherextraktion dient nur dazu, die Phosphatide und Fette zu entfernen und wird nicht weiter verwendet.

Wirkung von 2 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Fällung des dritten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*

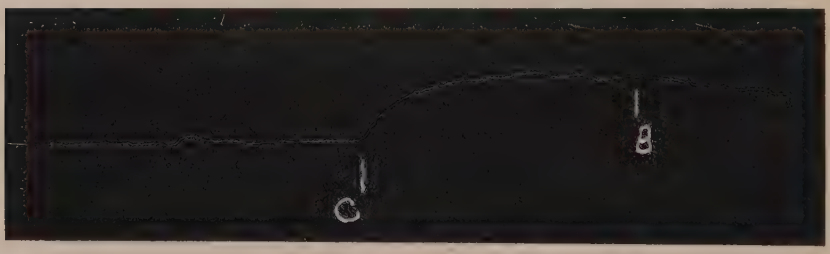


Wirkung von 2 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Fällung des dritten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

Die wässerigen Extrakte werden eingedampft und acetyliert. Zur Untersuchung am Darme kämen also ein wässeriger Extrakt der alkoholischen Lösung und ein wässeriger Extrakt der alkoholischen Fällung des bestrahlten Eies, sowie analoge von der Kontrolle. Die Hauptcholinmenge ist in der alkoholischen Lösung enthalten, wo schon 0,2 cm³ einen deutlichen Ausschlag ergeben, während dieses bei der Fällung erst bei 2 cm³ geschieht.



Superposition von 5 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Fällung vom dritten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt. — Kontrolle.*



Superposition von 5 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Fällung vom dritten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle. — Bestrahlt.*

Dabei zeigen aber die Ausschläge vom bestrahlten Ei dem Kontrollei gegenüber keinen Unterschied, was sich auch bei der Superposition feststellen lässt. Der geringe Unterschied im Gewichte der Eier kann ebenfalls nicht in Betracht ge-

zogen werden, zumal das bestrahlte Ei das grössere Gewicht zeigte und eine Cholinbildung um so sicherer nachzuweisen sein müsste.

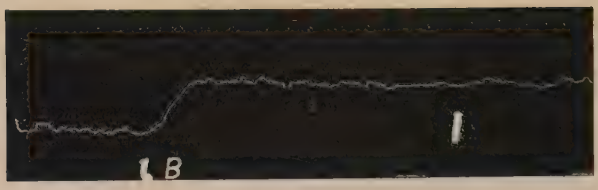
Vierter Versuch:

Zur Sicherung der erhaltenen Resultate wurde noch ein Versuch an Hühnereiern unter gleichen Bedingungen angestellt. Auch diesmal konnten wir die Feststellung machen, dass keine makroskopischen Veränderungen stattfinden und auch keinerlei Geruchsunterschied gegenüber der Kontrolle vorhanden ist. Die Verdichtung des Keimbläschens und die tropfige Entmischung vom Dotter waren auch hier vorhanden.

Wirkung von 0,3 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Lösung des vierten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.*

Wirkung von 0,3 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Lösung des vierten Versuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.*

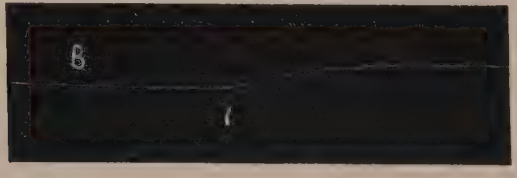
Bei diesem Versuch wurden nur die Dotter verarbeitet, von denen der bestrahlte 15,15 gr wog, die Kontrolle 14,88 gr. Auch hier wurde aus der alkoholischen Lösung und der Fällung je ein wässeriger und ein ätherischer Extrakt gemacht. Bei der Prüfung der wässerigen Extrakte nach Acetylierung am Darme zeigte sich ebenfalls kein Unterschied zwischen bestrahltem und Kontrollei.



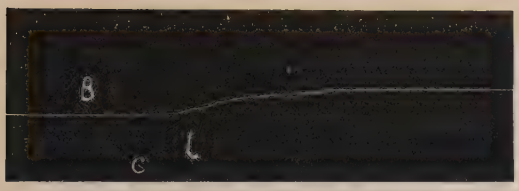
Superposition von 0,8 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Lösung vom vierten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt. — Kontrolle.*

Superposition von 0,8 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Lösung vom vierten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle. — Bestrahlt.*

Der Einwand, dass Cholinbildung stattgefunden haben könnte, das entstandene Cholin aber weiter zu Trimethylamin abgebaut werde, ist schon darum unhaltbar, weil es auch in diesem Fall möglich sein müsste, bei der Empfindlichkeit der verwendeten Methoden das Cholin als Zwischenprodukt nachzuweisen.



Wirkung von 3 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Fällung des vierten Cholinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt. — Kontrolle.*



Wirkung von 3 cm³ des acetylierten und auf 100 cm³ verdünnten Extraktes der alkoholischen Fällung des vierten Cholinversuches auf den in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.* — *Bestrahlt.*

Superposition von 5 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Fällung vom vierten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Bestrahlt.* — *Kontrolle.*

Superposition von 5 cm³ des Rückstandes der alkoholischen Fällung vom vierten Versuch an dem in 100 cm³ Ringerlösung suspendierten Meerschweinchendarm. *Kontrolle.* — *Bestrahlt.*

Um aber festzustellen, ob Cholinum basicum überhaupt durch Radiumstrahlen zersetzt werden kann, haben wir folgenden Versuch angestellt:

Fünfter Versuch:

Es wurde eine trimethylaminfreie Cholinbase folgendermassen dargestellt: 0,5 gr Cholinchlorhydrat wurden mit alkalifreiem, frisch gefälltem und im Ueberschuss vorhandenen

Silberoxyd geschüttelt, dabei bildet sich Cholinum basicum und Chlorsilber. Durch die Lösung wird ein Luftstrom durchgesaugt, den man durch eine davorgehaltene Waschflasche mit Natronlauge kohlensäurefrei macht. Die aus der Cholinlösung kommende Luft passiert eine zweite Waschflasche mit 50 cm^3 $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure. Nach 66 Stunden war kein Trimethylamingeruch mehr an der Cholinlösung nachzuweisen, in der Schwefelsäure konnte man durch Titration 0,0118 gr Trimethylamin feststellen. Die Titration der Cholinlösung ergibt einen Gehalt von 0,435% Cholin.

Von dieser Lösung wurden 10 cm^3 während 48 Stunden mit Radium beschickt. Darnach liess sich kein Geruch nach Trimethylamin wahrnehmen und auch titrimetrisch keine Verminderung des Cholingehaltes nachweisen.

Aus unseren Untersuchungen ziehen wir folgende *Schlüsse:* Bei einer Versuchsanordnung, die den therapeutischen Bedingungen der Radiumwirkung entsprechen, lässt sich

I. keinerlei Cholinabspaltung in bestrahlten Lecithinlösungen nachweisen.

II. Keine Veränderungen an Hühnereiern nach der Bestrahlung im Sinne von Schwarz wahrnehmen, sowohl in bezug auf makroskopisches Aussehen, als auch auf Geruchsveränderung.

III. Es treten dagegen bei den Bestrahlungen Veränderungen am Eidotter auf, die eher im Sinne einer physikalisch-chemischen (den Zustand der Kolloide verändernden) Wirkung der Radiumstrahlen aufzufassen wären.

IV. Bei Anwendung des überlebenden Meerschweinchendarmes zum Cholinnachweis (als Acetylverbindung) lässt sich in bestrahlten Eiern keine Cholinbildung feststellen. Dies spricht sowohl gegen einen direkten Abbau des Eierlecithins, wie gegen eine Aktivierung von Lecithinasen durch Radiumstrahlen.

V. Die Frage, ob durch Radiumstrahlen freies Cholin unter Bildung von Trimethylamin zersetzt wird, wurde im negativen Sinne entschieden.

Bei der Abschliessung dieser Arbeit möchte ich Herrn Prof. R. Staehelin für die Ueberweisung derselben und für die Erlaubnis, die Laboratorien der medizinischen Klinik benutzen zu dürfen, meinen besten Dank aussprechen. Herren Dr. Guggenheim und W. Löffler danke ich für die Unterweisungen in der von ihnen geschaffenen Methodik, die mir so viele Dienste leistete, sowie für das Interesse, das sie der Arbeit entgegengebracht haben.

Literatur.

1. Abderhalden: Lehrbuch der physiologischen Chemie.
2. — und F. Müller: Verhandlungen der Berliner physiol. Gesellschaft 6. V. 1910.
3. — und F. Müller: Med. Klinik 1910, Nr. 22.
4. — und — Die Blutdruckwirkung des reinen Cholins, Zeitschr. f. physiol. Chemie, 65, S. 420.
5. Allen, R. W.: Eine neue Methode des Nachweises des Cholins im Blute und der Cerebrospinalflüssigkeit. Journ. of Physiolog. 31., LVI-LVIII, cit. nach Zentralbl. f. Tierchemie.
6. Allmann: Zur nichtoperativen Carcinombehandlung. Strahlentherapie Bd. 4, S. 626.
7. Benjamin und v. Reuss: Röntgenstrahlen und Stoffwechsel. Münchn. med. Wschr. 1906. S. 1860.
8. Bohn, G.: Influence des rayons du radium sur les animeaux en voie de croissance. Compt. rend. CXXXVI. 17. S, 1012.
9. — Influence des rayons du radium sur les oeufs vièrges et fécondés et sur des premiers stades de développement. Compt. rend. CXXXVI, 18, S. 1085.
10. Bokay: Zeitschr. f. physiol. Chem Bd. I., S. 157.
11. Bouquet et Pachon: Action vasoconstrictive de la choline. Compt. rend. de la Soc. biol. LXVII, S. 218.
12. Claude et Blanchetier: Recherches sur la présence de choline dans le sang. Journ. de physiol. VIII. p. 87.
13. Dale, H. H.: The action of certains esters and ethers of cholin und their relation to muscarin. Journ. of pharm. and experim. Therapeutics. VI. 2. p. 147. cit. Centralbl. f. Physiol. 1915.
14. Desgrez: De l'influence de la choline sur les sécrétions glandulaires. Compt. rend. CXXXV, S. 52.
15. — et Chevallier: Action de la choline sur la pression arterielle. Compt. rend. CXLVI, S. 89.
16. Donath: Vorkommen und die Bedeutung des Cholins in der Cerebrospinalflüssigkeit bei Epilepsie nebst weiteren Beiträgen zur Chemie desselben. Zeitschr. f. physiol. Chem. XXXIX, S. 526.
17. — Arch. f. exper. Path. und Pharm. 1914. 77.
18. — Detection of cholin in cerebrospinalfluid by means of polarisation-microscop. Journ. of physiol. XXXIII, S. 211.
19. Ellinger: Münchn. med. W'sch. 1914, 61. S. 2336.

20. Exner: Wiener klin. W'schr. 1904. Nr. 50.
21. — und Sywek: Wiener klin. W'schr. 1906. Nr. 5.
22. — und Zdarek: Wiener klin. W'schr. 1905. Nr. 4.
23. Fernau und Pauli: Ueber die Einwirkung der durchdringenden Radiumstrahlung auf anorganische und Biokolloide I. Biochem. Zschr. Bd. 70, S. 426.
24. Fingerling: Biochem. Zschr. Bd. 38, S. 448. 1912.
25. Florence: Chem. Zentralblatt 1897, II. cit. n. Meyer Jacobsohn organische Chemie.
26. Franchini: Richerche sulla Lecitina, Colina ed acido formico. Arch. di farm. esperimentale. Vol. VII. Pg. 371.
27. von Fürth und C. Schwarz: Ueber die Natur der blutdruckerniedrigenden Substanz in der Schilddrüse. Pflügers Arch. 124, S. 361.
28. Gautrelet: I. Présence de la choline dans certaines glandes. Action des leurs extraits sur la glycosurie adrénalique. II. Mécanisme de l'action hypotensive des certaines glandes. Compt. rend. Soc. biol. LXV, S. 174.
— La choline dans le serum des chiens décapsulés. Compt. rend. Soc. biol. LXVI, 22. S. 1040.
29. Gähwyler: Experimenteller Beitrag zur chemischen Wirkung der Röntgenstrahlen. Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen Bd. 25, S. 41.
30. Gradinecu: Pflügers Arch. 1913. S. 152.
31. Guggenheim und Löffler: Ueber das Vorkommen und das Schicksal des Cholins im Tierkörper. Eine Methode zum Nachweis kleinster Cholinmengen. Biochem. Zeitschr. Bd. 74, S. 208. 1916.
— und Löffler: Biologischer Nachweis proteinogener Amine in Organextrakten und Körperflüssigkeiten. Biochemische Zeitschrift Bd. 72. S. 303.
32. Guggenheim: Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Prinzips der Hypophyse. Biochem. Zeitschr. 65, S. 215.
33. Halberstädter und Rütten: Experimentelle Untersuchungen über die biologische Wirkung des Encytols. Strahlentherapie V. H. 2. S. 787.
34. Halliburton, W. D.: Zur Biochemie der peripheren Nerven. Ergebn. d. Physiol. 1905. Bd 4. S. 23.
35. — und Mott: Die Chemie der Nervendegeneration. Journ. of the chem. Soc. 80, II.
36. — und Mott: The physiological action of cholin and neurin Philosoph. Transaction of Royal Soc. 191. B. 1899.
37. Henri, V. und Meyer, A.: Action des radiations de radium sur les colloides Compt, rend. Soc. biol. LVI, 6. Pg. 229.
— und Meyer, A.: Précipitations des colloides positifs par les radiations de radium. Compt. rend. Soc. biol. LVII, 24, pg. 33.
— und Meyer, A.: Actions des radiations de radium sur les colloides, l'hémoglobine, les ferments et les globules rouges. Compt. rend. CXXXVIII, 8, pg. 521.

38. Hertwig, G.: Radiumbestrahlung unbefruchteter Froscheier und ihre Entwicklung nach Befruchtung mit normalem Samen. Arch. f. mikroskop. Anatomie, LXXVII. II. Abt. S. 165. 39.
39. Hertwig, O.: Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Ein Beitrag zur experiment. Zeugungs- und Vererbungslehre. Arch. f. mikroskop. Anatomie, LXXVII. II. Abt. S. 1 und 97.
40. Hippel und Pagenstecher: Münchn. med. W'schr. Nr. 53, p. 1891.
41. Höesslin: Ueber den Abbau des Cholins im Tierkörper. Hofm. Beitr. VIII, S. 27.
42. Hoffmann, R. St. und Schulz, O. E.: Zur Wirkungsweise des röntgenbestrahlten Lecithins auf den menschlichen Organismus. Wiener klin. W'schr. 1905, 18 S. 114.
43. Hunt Reid: A physiological Test for cholin and some of its application. Journ. of pharm. and experiment. Therapeutics Vol VII. Nr, 3. S. 301.
44. Kaufmann. M.: Ueber das angebliche Vorkommen von Cholin in pathologischer Lumbalflüssigkeit. Zeitschr. f. physiol. Chemie, 66. S. 343.
— Ueber den Befund von Cholin im Ochsengehirn. Zeitschr. f. physiol. Chemie 74, S. 175.
45. Kaufmann und Vorländer: Ueber den Nachweis des Cholins nebst Beiträgen zur Kenntnis des Trimethylamins. Ber. der deutsch. chem. Gesellsch. 43, S. 2735.
46. Kinoschita: Pflügers Arch. 1910, Bd. 132 S. 607.
47. Klein: Münchn med. W'schr. 1915, S. 449.
48. Kutscher und Lohmann: Endprodukte der Pankreas- und Hefeselbstverdauung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, S. 215.
49. Lohmann: Cholin, die den Blutdruck erniedrigende Substanz der Nebennieren. Pflügers Arch. Bd. 118, S. 215 und Bd. 122, S. 203.
50. — Ueber die Verteilung des blutdruckherabsetzenden Cholin in der Nebenniere. Centralbl. f. Physiol. Bd 21, S. 139.
— Ueber einige Bestandteile der Nebennieren, Schilddrüse und Hoden. Zeitschr. f. Biologie Bd. LVI.
51. Loewi und Gettwert: Pflügers Arch. 1914, 158. S. 29.
52. Modrakowsky: Ueber die physiologische Wirkung des Cholins. Pflügers Arch. CXXIV, 11—12, S. 6011.
53. Marino-Zucco: Jahresbericht für Tierchemie 18, 251.
54. Mansfeld: Ueber den Donath'schen Nachweis des Cholins bei Epilepsie. Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, S. 156.
55. Mehler und Asher: Münchn. med. W'schr. Bd. 60, S. 748.
56. Meidner: Therapie der Gegenwart 1912, S. 362.
57. Messernitzky: Wratsch 1910, Nr. 12. cit. Gähwyler.
58. Müller, F.: Pflügers Arch. 134, S. 289.
59. Neuberg, C.: Chemisches zur Carcinomfrage I. Ueber die Wirkungsweise des Radiums bei Carcinom. Zeitschr. f. Krebsforschung 1904, Bd. 2, S. 171.
60. — Radiumwirkung bei Carcinom. VII. Tagung der Verhandlung d. deutschen Patholog. Gesellsch.

61. Neuberg und Schwenk, E. Biochem. Zeitschr. 71, S. 219.
62. Neupauer: Photoaktivität der Gewebe als Faktor der biologischen Strahlenwirkung. Münchn. med. W'schr. 53, S. 365.
63. Pal, J.: Zur Kenntnis der Cholinwirkung. Zentralbl. f. Physiologie XXIV, S. 1.
64. — Ueber die Wirkung des Cholins und des Neurins. Zeitschr. f. exp. Path. Bd. IX.
65. Patta Aldo: Beitrag zum Studium des Abbaues der Lecithine und des Cholins. Ueber das Vorkommen des Trimethylamins im Harn. Arch. di farm. spec. 18, S. 284.
66 Perthes, G.: Versuche über den Einfluss der Röntgen- und Radiumstrahlen auf die Zellteilung. Deutsche med. W'schr. XXX, 17, S. 632.
67. Popielski: Ueber die Blutdruckwirkung des Cholins. Zentralbl. f. Physiol. Bd. XXIV, Nr. 20.
68. Rapp: Münchener med. W'schr. 1914, S. 112.
69. Riesser: Theoretisches und Experimentelles zur Frage der Kreatinbildung im Organismus. Versuche über Kreatinbildung aus Betain und Cholin. Zeitschr. f. physiol. Chem. 86, S. 415.
70. — Weitere Beiträge zur Frage der Kreatinbildung aus Cholin und Betain. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 90, S. 221.
71. Ritter und Allmann: Experimentelle Beiträge zur Cholinwirkung. Strahlentherapie IV, S. 398.
72. — und Tamm: Weitere Beiträge zur Cholinwirkung. Strahlentherapie V, S. 231.
73. Rosenheim: Cholin in der Cerebrospinalflüssigkeit. Journ. of physiol. 35, S. 465.
74. — New tests for cholin in physiolog. fluids. Journ. of physiol. Vol. 33, Pg. 220. cit. nach Schwarz und Lederer.
75. Schapper: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Radiums auf embryonale und regenerative Entwicklungsvorgänge. Deutsche med. W'schr. 1904, Nr. 39 und 40.
76. Schlachta: Zur chemischen Imitation der biologischen Strahlenwirkung. Münchn. med. W'schr. 52, S. 911.
77. — Zur Theorie der biologischen Strahlenwirkung. Münchn. med W'schr. 52, S. 1236
78. Schmidt, F. W.: Ueber Cholincadmiumchlorid. Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, S. 354.
79. Schmidt-Nielsen: Wirkung der Radiumstrahlen auf Chymosin. Hofm. Beitr. 5, S. 398.
80. Schulze, E.: Ueber die zur Darstellung von Cholin, Betain und Trigonellin aus Pflanzen verwendbaren Methoden und über die quantitative Bestimmung dieser Basen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, S. 155.
81. Schwarz, G.: Ueber die Wirkung der Radiumstrahlen. Pflüger's Archiv Bd. 100, S. 532.

82. Schwarz und Lederer: Ueber das Vorkommen des Cholins im Thymus, Milz und Lymphdrüsen. Pflüger's Archiv Bd. 124, S. 353.
83. Somma, M. P.: Zeitschr. f. Strahlentherapie III. S. 871.
84. Stanek, V.: Ueber die quantitativen Bestimmungen von Cholin und Betain. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 48, S. 334 und Bd. 54, S. 354. — Ueber das Cholinperjodid und die quantitative Fällung von Cholin durch Kaliumtrijodid. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 46, S. 280.
85. Strecker: Annales Chem. Pharm. 123, S. 352. und 148, S. 76. cit. nach Halliburton.
86. Szécsi: Zeitschr. f. Chemotherapie 1912.
87. — Med. Klinik Bd. II, S. 1162.
88. Teissier und Thevenot: Antagonisme de la choline et de l'adrenaline. Compt. rend. Soc. biol. LXIV, S. 425.
89. Thiess, A.: Wirkung der Radiumstrahlen auf verschiedene Gewebe und Organe. Diss. Leipzig 1905.
90. Trendelenburg, B.: Physiologische und pharmakologische Versuche über die Dünndarmperistaltik. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie Bd. 81, S. 55.
91. Tschachotin: Ueber die Strahlenwirkung auf Zellen, speziell Krebszellen und die Frage der chemischen Imitation derselben. Münchn. med. W'schr. 1912. S. 2379.
92. de Tur: Sur les malformations embryonaires obtenues par l'action du radium sur les oeufs des poules Compt. rend. Soc. de biol. LVII, 27, S. 236.
93. Werner, R.: Biologische und therapeutische Wirkung der Radiumstrahlen, Bruns Beitr. Bd. 52, S. 155.
94. — Zentralbl. f. Chir. 1904, S. 1233.
95. — Zur Kenntnis und Verwertung der Rolle des Lecithins bei der biologischen Wirkung der Radium- und Röntgenstrahlen. Deutsche med. W'schr. 81, S. 61.
96. — Zur chemischen Imitation der biologischen Strahlenwirkung. Münchn. med. W'schr. 1905, S. 691.
97. — Ueber die Radiumwirkung und Infektionserreger. Münchn. med. W'schr. 1905. S. 625.
98. — Erworbene Photoaktivität der Gewebe als Faktor der biologischen Strahlenwirkung und ihre Imitation. Münchn. med. W'schr. 1906, Nr. 1.
99. — Biologische und therapeutische Wirkung der Radiumstrahlen. Bruns Beitr. 1907, S 51.
100. — Ueber die chemische Imitation der Strahlenwirkung und ihre Verwendbarkeit zur Unterstützung der Strahlentherapie. Strahlentherapie 1912, S. 442.
101. — Münchn. med. W'schr. 1913, S. 2100.
102. — Experimentelle Beiträge zur Chemotherapie der malignen Geschwülste. Zeitschr. f. Chemotherapie, I, S. 357.
103. — Strahlentherapie 1915, Bd. V, S. 1 und 610.

104. Werner, R.: Zur lokalen Sensibilisierung und Immunisierung der Gewebe. Deutsche med. W'schr. Bd. 21, S. 1072.
105. Werner und Asher: Strahlentherapie Bd. I, H. 4.
106. — und v. Lichtenberg: Deutsche med. W'schr. 1906, Nr. I.
107. — und v. Lichtenberg: Zur Beeinflussung der Gravidität mit Cholininjektionen. Deutsche med. W'schr. 1906, S. 1583.
108. Werner und Scécsi: Med. Klinik 1912, Nr. 36.
109. Wohlgemuth, J.: Zur Kenntnis der physiologischen Wirkung des Radiums. Berl. klin. W'schr. Bd. 26, S. 704. 1904.
110. — VII. Tagung der Verhandlg. d. Deutschen Patholog. Gesellschaft.